

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Lehrstuhl für Toxikologie und Pharmakologie
der Universität Erlangen-Nürnberg
Vorstand: Prof. Dr. C.-J. Estler

Vergleichende
tierexperimentelle Untersuchungen
zur subakuten Hepatotoxizität
von Tetracyclinen

Der Einfluß von Tetracyclin, Rolitetraeyclin
und Doxycyclin auf den Triglyceridgehalt von
Leber und Serum und auf die Harnstoff- und
Bilirubin-Konzentration im Serum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Franz J. Lang
aus Regensburg

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Lehrstuhl für Toxikologie und Pharmakologie
der Universität Erlangen-Nürnberg

Vorstand: Prof. Dr. C.-J. Estler

Vergleichende
tierexperimentelle Untersuchungen
zur subakuten Hepatotoxizität
von Tetracyclinen

Der Einfluß von Tetracyclin, Rolitetracyclin
und Doxycyclin auf den Triglyceridgehalt von
Leber und Serum und auf die Harnstoff- und
Bilirubin-Konzentration im Serum

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Franz J. Lang
aus Regensburg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. W. Kersten

Referent: Prof. Dr. C.-J. Estler

Tag der mündlichen Prüfung: 11.02.1980

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. METHODIK	11
3. ERGEBNISSE	18
4. DISKUSSION	34
5. ZUSAMMENFASSUNG	41
6. LITERATURVERZEICHNIS	44
7. LEBENSLAUF	54



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. EINLEITUNG

Die Entdeckung der Tetracycline im Jahre 1945 (Oxytetracyclin wurde als erstes Antibiotikum dieser Gruppe aus *Streptomyces aureofaciens* isoliert) hat in der Reihe der Chemotherapeutika eine wesentliche Lücke geschlossen. Eine breite antibakterielle Wirksamkeit sowie eine relativ gute Verträglichkeit ermöglichten schon bald den Einsatz dieser Verbindung in der Therapie bakterieller Infektionen.

Bei Verabreichung der Tetracycline in hohen Dosen und über längere Zeiträume hinweg wurden jedoch schon bald unerwünschte Begleiterscheinungen der Therapie beobachtet, die zu umfangreichen Untersuchungen an Patienten und Tieren Anlaß gaben. Dabei stellte sich heraus, daß unter den verschiedenen Nebenwirkungen der Tetracycline nephrotoxischen und hepatotoxischen Effekten eine besondere Bedeutung zukommt.

Die nach Bekanntwerden der Hepatotoxizität der Tetracycline durchgeführten klinischen Untersuchungen ergaben, daß die am häufigsten zu beobachtende Nebenwirkung an der Leber das Auftreten einer Leberverfettung war und daß diese vor allem bei intravenöser Gabe hoher Tetracyclindosen auftrat (23). Diese am Menschen erhobenen Befunde ließen sich im Tierexperiment reproduzieren, so daß auf

eine dosisabhängige, direkt hepatotoxische Wirkung der Tetracycline geschlossen wurde.

Die Beobachtungen, daß unter einer Chemotherapie mit Chloramphenicol, einem Antibiotikum mit fast gleichem antibakteriellen Wirkungsspektrum (3, 5, 23), ähnliche hepatotoxische Effekte nicht entstanden und daß auch durch in seiner antibakteriellen Wirksamkeit inaktiviertes Chlor-tetracyclin eine Leberverfettung erzeugt wurde (34, 35), führten zu der Annahme, die unerwünschten Nebenwirkungen an der Leber seien wohl durch die spezifisch eigene Struktur und spezifisch eigene chemische Eigenschaften der Tetracycline bedingt und nicht etwa als die Folge von Veränderungen in der Intestinalflora anzusehen (16, 34, 35).

Die Leberverfettung ist vor allem durch einen Anstieg der Konzentration der Triglyceride in der Leber gekennzeichnet (15), wie es beispielsweise bei Tetracyclinapplikation belegt wurde (10, 60). Für Chlortetracyclin und Oxytetracyclin wurde ein analoger Effekt in vielen klinischen und tierexperimentellen Studien gezeigt (15, 35, 49, 63), wobei auch eine reziproke Senkung des Triglyceridgehalts im Serum festgestellt werden konnte (29).

Da die durch Tetracycline erzeugte Leberverfettung häufig mit einer Senkung der Triglycerid-Konzentration im Serum einhergeht, wurde sie in kausalen Zusammenhang mit den durch

Tetracyclinen hervorgerufenen Störungen im Proteinstoffwechsel gebracht: Die Tetracycline greifen in der Elongationsphase der Translation bei der Proteinbiosynthese der Säugetier- und Bakterienzelle an, was einerseits ihre antibakterielle Wirksamkeit, andererseits aber auch ihre entsprechende antianabole Wirkung in menschlichen und tierischen Zellen bedingen soll. Sie hemmen spezifisch die Anheftung der Aminoacyl-t-RNA an die ribosomale Akzeptorstelle und verhindern so die Peptidkettenverlängerung (7, 8, 9, 21, 24, 25, 26, 28, 30, 48, 58, 59, 62).

Wenn dieser allgemeine protein-antianabole Effekt der Tetracycline sich auch auf die Synthese von Lipoproteinen erstreckt, dann wird ein Zusammenhang mit den durch dieselben Stoffe bewirkten Leberverfettungen wahrscheinlich. Die aus der Leber stammenden Triglyceride sind nämlich an sich wasserunlöslich und ihr Transport im Blut muß deshalb nach Bindung an Protein in Form von wasserlöslichen Lipoproteinen erfolgen, die ihren Ursprung ebenfalls vorwiegend in der Leber haben (57). Durch eine Hemmung der Lipoproteinsynthese in der Leber wird die Abgabe von Triglyceriden ins Blut gesenkt und hierdurch eine Akkumulation von Triglyceriden in den Leberzellen erzeugt (5, 31, 61).

Auf den protein-antianabolen Effekt der Tetracycline wurde vor allem anhand einer Zunahme des Serumharnstoffspiegels, aber auch von Stickstoff-Bilanz-Untersuchungen

geschlossen (51). Da die wegen der verminderten Proteinsynthese überschüssigen Aminosäuren vermutlich vor allem in den Harnstoffzyklus eingeschleust werden, steigt der Serumharnstoffspiegel bei einer Hemmung des Protein-Anabolismus an. In vielen Arbeiten finden sich in der Tat Hinweise auf eine Erhöhung des Harnstoffspiegels unter dem Einfluß von Tetracyclinen (11, 16, 17, 18, 27, 33, 36, 43, 46, 55, 56), was besonders bei Patienten mit vorgeschädigter Niere beobachtet wurde (1, 2, 12). Neben dem antianabolen Effekt der Tetracycline soll auch noch ein dehydratisierender Effekt bei signifikantem Natrium- und Wasserverlust mit bleibender Hypovolämie und erniedrigter glomerulärer Filtrationsrate zur Erhöhung des Harnstoffspiegels im Serum führen (56). Nach Korkeila (33) soll der antianabole Effekt der Tetracycline durch den Ernährungszustand in der Weise beeinflusst werden, daß negative Stickstoff-Bilanzen und Erhöhungen des Harnstoffspiegels im Serum bei Patienten in gutem Ernährungszustand erst bei höherer Dosierung auftreten (untersucht mit Oxytetracyclin).

Ein Anstieg des Serumharnstoffs ist aber keine absolut obligate Folge einer Tetracyclin-Behandlung. Zum Beispiel wurde beschrieben, daß bei Menschen nach einer 8tägigen Behandlung mit Tetracyclin (Dosierung i.v. 1 g/Tag an den ersten drei Tagen, 0,5 g/Tag an den folgenden Tagen) keine Steigerung des Harnstoffspiegels gefunden wurde und sogar

bei zwei Patienten, deren Serumharnstoffspiegel vor der Behandlung erhöht war, dieser am Ende der Behandlung sich normalisiert hatte (60). In neueren Arbeiten wurde berichtet, daß der Anstieg der Harnstoff-Konzentration im Serum bei Behandlung von Patienten mit Doxycyclin geringer sei als bei Behandlung mit Oxytetracyclin, wenn beide Pharmaka in mittlerer Dosierung gegeben werden (42). An anderer Stelle wurde ein Anstieg der Harnstoff-Konzentration im Serum unter Doxycyclinbehandlung (am 1. Tag 200 mg oral, an weiteren 9 Tagen 100 mg/Tag oral) im Gegensatz zu Tetracyclinbehandlung (1 g/Tag oral, 7 Tage lang) sogar völlig ausgeschlossen (37). Ferner wurde aufgrund von Stickstoff-Bilanz-Untersuchungen eine antianabole Wirkung von Doxycyclin und Rolitetracyclin (Pyrrolidino-methyl-tetracyclin) als unwahrscheinlich angesehen (51). Im Tierversuch mit Kaninchen wurden nur mäßig erhöhte Harnstoffspiegel bei hoher Dosierung von Tetracyclin, Chlortetracyclin und Oxytetracyclin (jeweils bis zu 300 mg/kg Körpergewicht intraperitoneal) beobachtet (19).

Als Hinweis für weitere Störungen der Leberfunktion kann der Bilirubinspiegel im Serum dienen. Aus diesem Grunde wurde der Bilirubinspiegel auch von mehreren Autoren im Zusammenhang mit Tetracyclin-Applikationen untersucht. Die Resultate waren auch hier uneinheitlich. Einmal wurden Hyperbilirubinämien, vor allem im Zusammenhang mit Erhöhungen der Triglycerid-Konzentration in der Leber festgestellt

(18, 34, 35, 47, 49, 63). Andererseits wurde auch von hohen Tetracyclindosen (bis zu 300 mg Tetracyclin/kg Körpergewicht intraperitoneal an Ratten verabreicht) der Bilirubinspiegel im Serum nicht beeinflußt (54). Bei Behandlung von Patienten mit Tetracyclin (2 g/Tag peroral) konnten ebenfalls keine abnormen Bilirubinbefunde erhoben werden (17).

Als weitere biochemische Parameter der Leberfunktion wurden von manchen Autoren die Aktivitäten von Enzymen im Serum geprüft, u.a. die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) und die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT). Auch hier waren die Ergebnisse teilweise widersprüchlich. So konnte bei klinischen Untersuchungen unter mittlerer Dosierung von Tetracyclin keine Erhöhung der Transaminaseaktivitäten im Serum beobachtet werden (60). Andererseits wurden im Tierversuch mit Ratten bereits bei niedriger Dosierung von Tetracyclin SGOT-Erhöhen und bei höherer Dosierung auch leichte SGPT-Erhöhen festgestellt (54), woraus ersichtlich wird, daß die SGOT ein empfindlicherer Parameter für durch Tetracycline induzierte Leberschädigungen ist als die SGPT (54). Diese Befunde bei den Bestimmungen der Aktivitäten der Transaminasen im Serum unter Tetracyclin-Behandlung sprechen dafür, daß auch schwerere Beeinträchtigungen der Zellintegrität der Leberparenchymzellen im Sinne einer Zellmembranschädigung und auch einer allerdings nicht sehr bedeutsamen Nekrose von Leberzellen vorkommen können, was

auch histologisch abgesichert werden konnte (7).

Obwohl nun an der Hepatotoxizität von Tetracyclinen keine Zweifel bestehen können, fällt bei einer Durchsicht der Literatur immer wieder die Divergenz der Einzelbefunde auf. Dies ist bei den klinischen Untersuchungen wenig verwunderlich, denn hierbei handelt es sich naturgemäß fast ausschließlich um Kasuistiken, in denen zufällige Beobachtungen berichtet werden. Aber auch bei den tierexperimentellen Studien handelt es sich zum größten Teil um isolierte Befunderhebungen, die schwer miteinander zu vergleichen sind. Unterschiedliche Tetracyclin-Derivate wurden an diversen Species in unterschiedlichen Dosen im Hinblick auf Veränderungen einzelner Stoffwechselfparameter untersucht, wobei das Augenmerk vor allem auf den molekularen Mechanismus der Tetracyclin-Wirkung gerichtet wurde. Befunde, die mit einer bestimmten Dosis eines Derivates erhoben wurden, wurden dann in simplifizierender Weise auf andere Derivate übertragen, ohne daß echte vergleichende Untersuchungen durchgeführt worden wären. Für viele Parameter fehlen auch Bestimmungen der Dosis-Wirkungs-Beziehungen.

Es sollte deshalb der Versuch unternommen werden, im Tierexperiment in einer umfassenden Versuchsserie den Einfluß verschiedener Tetracycline in steigender Dosierung bei akuter und subakuter Verabreichung auf eine Reihe von Parametern zu untersuchen, die geeignet sind, Aufschluß über den Funktionszustand der Leber zu geben.

Die vorliegende Studie ist Teil dieser Versuchsserie. Ihr Gegenstand ist die vergleichende Untersuchung der subakuten Wirkung der drei Tetracyclin-Derivate Tetracyclin, Rolitetetracyclin und Doxycyclin auf den Gehalt der Leber an Triglyceriden und den Gehalt des Blutes an Triglyceriden, Harnstoff und Bilirubin. Tetracyclin wurde deshalb gewählt, weil es sich um eines der ältesten Tetracycline handelt, das aber immer noch häufig klinisch verwendet wird. Es ist sehr gut untersucht und kann deshalb als Referenzpräparat dienen. Bei Doxycyclin handelt es sich um ein relativ neues Tetracyclin-Derivat. Es besitzt andere chemische Eigenschaften, z.B. höhere Lipophilie (23). Es wird niedriger dosiert und sein Nebenwirkungsrisiko wird als besonders gering veranschlagt (23). Aus diesem Grund wird es neben Breit-spektrum-Penicillinen und Cotrimoxazol als Breitspektrum-antibiotikum bevorzugt klinisch eingesetzt. Die hepato-toxischen Nebenwirkungen des Rolitetetracyclin sollen ebenfalls sehr gering sein (60). Es wurde in die Studie einbezogen, weil über dieses ebenfalls häufig benutzte Tetracyclin-Derivat nur sehr wenige klinische oder tierexperimentelle Untersuchungen vorliegen.

Die Dosierung der Tetracycline wurde so gewählt, daß sie vom therapeutischen bis in den toxischen Bereich reichte.

Zur Wahl der untersuchten Funktionsparameter ist festzustellen: Die Leberverfettung ist wohl der am häufigsten be-

obachtete Leberschaden unter einer Tetracyclin-Therapie. Die Triglyceride wurden als Parameter unter den Leberlipiden deshalb ausgewählt, da festzustehen scheint, daß eine durch Tetracycline induzierte Leberverfettung vor allem durch Erhöhung der Triglyceride, viel weniger durch Vermehrung der Phospholipide und des Cholesterins bedingt wird (15). Parallel hierzu wurde bei den gleichen Tieren die Konzentration der Triglyceride im Serum bestimmt, um eine eventuelle reziproke Abnahme der Konzentration ersichtlich zu machen, die für eine Störung der Lipoproteinsynthese bzw. -sekretion charakteristisch wäre.

Der Serumharnstoff wurde untersucht, weil, wie schon zu Beginn der Einleitung erwähnt, neben der Leberverfettung als am häufigsten beobachtete Nebenwirkung der protein-antianabole Effekt der Tetracycline steht, der sich u.a. in einer Erhöhung des Harnstoffspiegels im Serum äußern kann.

Als vierter Parameter der Leberfunktion wurde die Konzentration des Gesamt-Bilirubins im Serum gewählt, um hiermit eventuell einen weiteren Hinweis auf eine Leberfunktionsstörung zu gewinnen. Welche Hinweise die Bilirubinbestimmung geben kann, geht aus dem biochemischen Schicksal des Bilirubins hervor, auf das hier nur kurz hingewiesen werden soll.

Bilirubin entsteht beim Abbau des Hämoglobins, der überwiegend in Milz und Leber, bei Blutungen jedoch auch in anderen Geweben erfolgt.



Das freie, d.h. unkonjugierte Bilirubin ist sehr schwer wasserlöslich und findet sich im Plasma relativ fest an Albumin gebunden. Es kann nicht über die Nieren ausgeschieden werden. Dieses unkonjugierte Bilirubin gelangt auf dem Blutweg in die Leber, wird von den Leberparenchymzellen aufgenommen, dort an ein Bindungsprotein (Ligandin) gebunden und anschließend mit Hilfe der Glucuronyl-Transferasen an Glucuronsäure gekoppelt. Das entstandene Bilirubin-Diglucuronid (konjugiertes Bilirubin) sowie eine geringe Menge unkonjugierten Bilirubins werden dann durch die Gallenkapillaren und die Gallenwege in den Darm ausgeschieden. Im Darmlumen entsteht durch Abspaltung der Glucuronsäure wieder freies Bilirubin, das durch die Darmbakterien weitgehend reduziert wird. Aus Veränderungen im Bilirubingehalt des Blutes lassen sich demnach Hinweise auf mehrere Störungen der Leberfunktion gewinnen (z.B. Bilirubinaufnahme und Bindung an Ligandin, Glucuronidierung des Bilirubin und Bilirubinexkretion), die u.U. weiterreichende Schlüsse auf die Kinetik anderer Stoffe erlauben, die seitens der Leber analog behandelt werden (45). Deshalb wurde auch der Bilirubinspiegel im Serum in dieser Arbeit mit bestimmt.

2. METHODIK

2.1. Allgemeines

Alle Untersuchungen wurden an männlichen NMRI-Mäusen mit einem Gewicht von 20 - 30 g durchgeführt. Die Haltung erfolgte in Makrolonkäfigen auf Sägemehlstreu bei konstanter Raumtemperatur von 24°C, wobei sich je 10 Tiere in einem Käfig befanden. Die Tiere wurden mit Standardpressfutter (Herilan ^(R)) und Wasser ernährt, beides ad libitum.

2.2. Versuchsvorbereitungen

Die drei Tetracyclin-Derivate (Tetracyclin, Rolitetetracyclin und Doxycyclin) wurden in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, jeweils an 5 aufeinander folgenden Tagen zur selben Zeit (morgens zwischen 8.00 und 9.00 Uhr) subcutan appliziert, und zwar in 4 Dosierungen (10, 25, 50, 100 µg/g Körpergewicht), wobei jedes Tier 0,01 ml Lösung/g Körpergewicht gespritzt bekam. Jede Einzeldosis wurde hierbei an 10 Versuchstiere verabreicht. Alle Tetracyclin-Dosen lagen unter der Letalitätsgrenze. Für jede geplante Untersuchung wurden 10 Kontrolltiere mitgeführt, die reine physiologische Kochsalzlösung in einem Volumen von 0,01 ml Lösung/g Körpergewicht analog den Versuchstieren 5 Tage lang subcutan gespritzt bekamen. Das Körpergewicht der Einzeltiere wurde vor der Injektion am 1. Injektionstag bestimmt und am 3. Injektionstag nachkontrolliert.

Ein Teil der Versuchstiere und die dazugehörigen Kontrolltiere wurden 2 Stunden nach der 5. Arzneimittelapplikation durch Genickbruch getötet, dekapitiert und entblutet. Das so gewonnene Blut wurde zur Bestimmung von Harnstoff, Bilirubin und Triglyceriden verwendet.

Das für die Bestimmung der Lebertriglyceride benötigte Lebergewebe wurde sofort nach der Dekapitation und Blutgewinnung so rasch wie möglich entnommen, um mögliche Veränderungen, u.a. des freien Glycerins, in der Leber nach der Tötung der Tiere zu verhindern. Dabei wurde darauf geachtet, daß für die Triglyceridbestimmungen Blut und Leber der gleichen Tiere verwendet wurden, damit eine Korrelation der Daten möglich wurde.

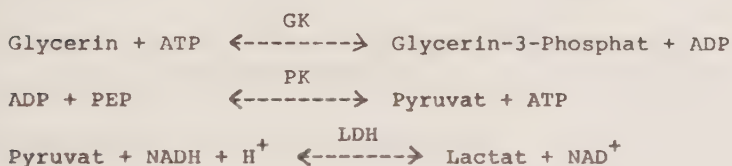
Die restlichen Versuchs- und Kontrolltiere einer Versuchsserie wurden erst am 6. Tag, d.h. genau 24 Stunden nach der letzten Injektion getötet. Dieser Versuch wurde durchgeführt, um eine eventuelle Normalisierung der Laborwerte und damit eine Regeneration der Leberfunktion, d.h. die Reversibilität der durch Tetracycline induzierten Leberschäden, zu erkennen.

2.3. Durchführung der Messungen

2.3.1. Bestimmung der Triglycerid-Konzentration im Lebergewebe

Lebergewebe wurde mit der 9fachen Menge physiologischer

Kochsalzlösung homogenisiert (Verdünnung des Lebergewebes im Homogenat 1:10). Ein Teil des Homogenats wurde für die Gesamt-Glycerin-Bestimmung verwendet, der Rest bei 12.000 Upm unter Kühlung zentrifugiert. In dem gewonnenen Überstand wurde die Konzentration des freien Glycerins enzymatisch bestimmt. Hierzu wurden die Reagenzien der "Test-Combination Triglyceride (Neutralfett)" der Firma Boehringer Mannheim GmbH verwendet. Der Test beruht auf folgendem Prinzip:



Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen:

Ein Teil des Überstands (0,2 ml) wurde mit 1 ml einer Lösung von Magnesiumsulfat MgSO_4 (4 mM) in Triäthanolaminpuffer (0,1 M; pH 7,6), 0,05 ml einer Lösung aus NADH (6 mM), ATP (33 mM) und PEP (11 mM) und 0,01 ml einer Suspension aus LDH (≥ 800 U/ml) und PK (≥ 130 U/ml) ca. 10 Minuten bei 20 - 25°C inkubiert, wonach die Extinktion dieses Gemisches photometrisch bei 365 nm Wellenlänge bestimmt wurde. Nach Zugabe von 0,01 ml einer Enzymsuspension mit Glycerokinase (GK) (≥ 150 U/ml) wurde nach 10 Minuten wiederum die Extinktion gemessen. Die sich ergebende Extinktionsdifferenz beruht auf der Umwandlung von

NADH in NAD^+ und ist der Konzentration des Glycerins im Bestimmungsansatz und der Konzentration des freien Glycerins im Lebergewebe nach oben beschriebenen Testprinzip proportional.

Die Bestimmung des Gesamt-Glycerins erfolgte nach einer Modifikation der halbenzymatischen Methode von Eggstein und Kreutz (13, 14, 52). 0,2 ml des Leberhomogenats wurden 20 Minuten lang mit 0,5 ml äthanolischer Kalilauge (0,5 N) bei 70°C verseift:



Danach wurde auf $20 - 25^\circ\text{C}$ abgekühlt und mit 1 ml Magnesiumsulfat-Lösung (0,15 M) versetzt, wonach bei 4000 UpM unter Kühlung zentrifugiert wurde. In 0,2 ml des Überstandes wurde nach obigem Testprinzip der Glyceringehalt bestimmt, wobei die Extinktionsdifferenz der Konzentration des Gesamt-Glycerins im Lebergewebe proportional ist. Die Differenz des Gesamt-Glycerins und freien Glycerins ergibt die Konzentration des Glycerid-Glycerins in der Leber, aus welcher nun die Konzentration der Triglyceride (Neutralfett) in [mg/g Lebergewebe] berechnet werden kann.

2.3.2. Bestimmung der Triglycerid-Konzentration im Serum

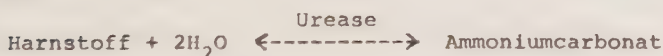
Die Bestimmung der Triglycerid-Konzentration im Serum erfolgte

analog der Bestimmung der Triglycerid-Konzentration im Lebergewebe, wobei nur anstatt des Leberhomogenats bzw. des Homogenatüberstandes nach der Zentrifugation bei 12.000 Upm frisches Serum zur Bestimmung des Gesamt-Glycerins bzw. des freien Glycerins verwendet wurde. Auch hierzu wurden die Reagenzien der "Test-Combination Triglyceride (Neutralfett)" der Boehringer Mannheim GmbH verwendet. Die Konzentration der Serum-Triglyceride wurde in $[mg/dl]$ errechnet.

2.3.3. Bestimmung der Harnstoff-Konzentration im Serum

Methode von Fawcett und Scott (20).

Testprinzip: Spaltung des Harnstoffs mit Urease (Berthelot-Reaktion) (20).



Die Ammonium-Ionen reagieren mit Phenol und Hypochlorit unter Bildung eines Farbkomplexes. Frisches, hämolysefreies Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung 1:10 verdünnt. Die Messung erfolgte gegen einen Reagenzien-Leerwert. Für die Herstellung des Reagenzien-Leerwertes wurden zunächst 0,1 ml einer mit aqua bidest. im Verhältnis 1:4 verdünnten Suspension aus Phosphat-Puffer (0,05 M; pH 6,5) und Urease (≥ 10 U/ml), für den Standardwert Phosphat-Puffer,

Urease und 0,02 ml Harnstofflösung (3 mg/100 ml bzw. 0,5 mM), für die Probenwerte Phosphat-Puffer, Urease und 0,02 ml verdünnten Serums bei 50 - 60°C 5 Minuten lang inkubiert und dann Leerwert, Standard und Proben mit 0,5 ml einer Lösung aus Phenol (0,106 M) und Nitroprussid-Natrium (0,17 mM) und 0,5 ml einer Lösung aus Natriumhypochlorit (11 mM) und Natronlauge (0,125 N) vermischt. Diese Gemische wurden 10 Minuten bei 50 - 60°C inkubiert und dann wurde photometrisch bei 546 nm Wellenlänge die Extinktion der Proben und des Standards gegen den Reagenzien-Leerwert gemessen. Die Konzentration des Harnstoffs wurde in $[mg/dl]$ errechnet.

2.3.4. Bestimmung der Bilirubin-Konzentration im Serum

Es wurde zur Bestimmung des Gesamt-Bilirubins die Methode nach Jendrassik und Mitarbeitern (32) angewendet. Die hierzu nötigen Reagenzien entstammen der "Test-Combination Bilirubin" der Boehringer Mannheim GmbH.

Testprinzip: Das Gesamt-Bilirubin wird in Gegenwart von Coffein mit diazotierter Sulfanilsäure zu einem Azofarbstoff gekuppelt.

Probenmaterial: frisches, hämolysefreies Serum.

Die Messung der Probe erfolgte photometrisch bei 578 nm Wellenlänge gegen einen für jede einzelne Probe neu herzustellenden Proben-Leerwert. Der Proben-Leerwert wurde erhalten durch Mischung von 0,075 ml einer Lösung aus

Sulfanilsäure (29 mM) und Salzsäure (0,17 N), 0,3 ml einer Lösung von Coffein (0,25 M) in Natriumbenzoat (0,52 M) und 0,075 ml Serum, durch Inkubation von 10 - 60 Minuten bei 20 - 25°C, darauffolgender Zugabe von 0,3 ml einer Lösung aus Tartrat (0,93 M) und Natronlauge (1,9 N) und nochmaliger Inkubation von 5 - 10 Minuten bei 20 - 25°C. Die Probenwerte wurden völlig analog erhalten, wobei dem Gemisch vor der ersten Inkubation noch 0,015 ml Natriumnitritlösung (NaNO_2 ; 25 mM) zugegeben wurden. Aus der Bestimmung der Extinktion der Probe gegen den Proben-Leerwert konnte die Konzentration des Gesamt-Bilirubins im Serum in [mg/dl] berechnet werden.

2.4. Statistische Auswertung

Aus den Einzelwerten jeder Versuchsgruppe wurden Mittelwerte ($\bar{x}$), Standardabweichung (s) und Standardabweichung des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) berechnet. Mit Hilfe des t-Tests nach Student konnte auf die Signifikanz der Unterschiede zwischen Proben- und zugehörigem Kontrollmittelwert geschlossen werden, die dann angenommen wurde, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit $P \leq 5 \%$ war. Bei der Darstellung der Ergebnisse sind in den Abbildungen neben der Differenz von Proben- und Kontrollmittelwert (Δ) auch standard error ($s_{\bar{x}}$) und Signifikanz angegeben.

3. ERGEBNISSE

Die Versuchsergebnisse sind in den folgenden Abbildungen zusammengestellt.

3.1. Triglyceride in der Leber

Tetracyclin (25 - 100 µg/g Körpergewicht) und Doxycyclin (50 - 100 µg/g Körpergewicht) führten 2 Stunden nach der letzten Applikation zu einer signifikanten Zunahme des Triglyceridgehaltes der Leber. Dies konnte für Rolitetra-cyclin bei keiner der 4 Dosierungen gefunden werden. Der Mittelwert aller Kontrollgruppen betrug $15,6 \left[\frac{\text{mg}}{\text{g Leber}} \right]$; 24 Stunden nach der letzten Applikation war keine signifikante Zunahme des Leberfetts mehr nachweisbar, außer bei der höchsten Dosis von Rolitetracyclin $\left[100 \mu\text{g/g Körpergewicht} \right]$, wobei dieser Effekt im Hinblick auf das Gesamtergebnis wohl als zufällig gewertet werden muß. Der Mittelwert aller Kontrollgruppen betrug $11,8 \left[\frac{\text{mg}}{\text{g Leber}} \right]$ (Abb. 1-3).

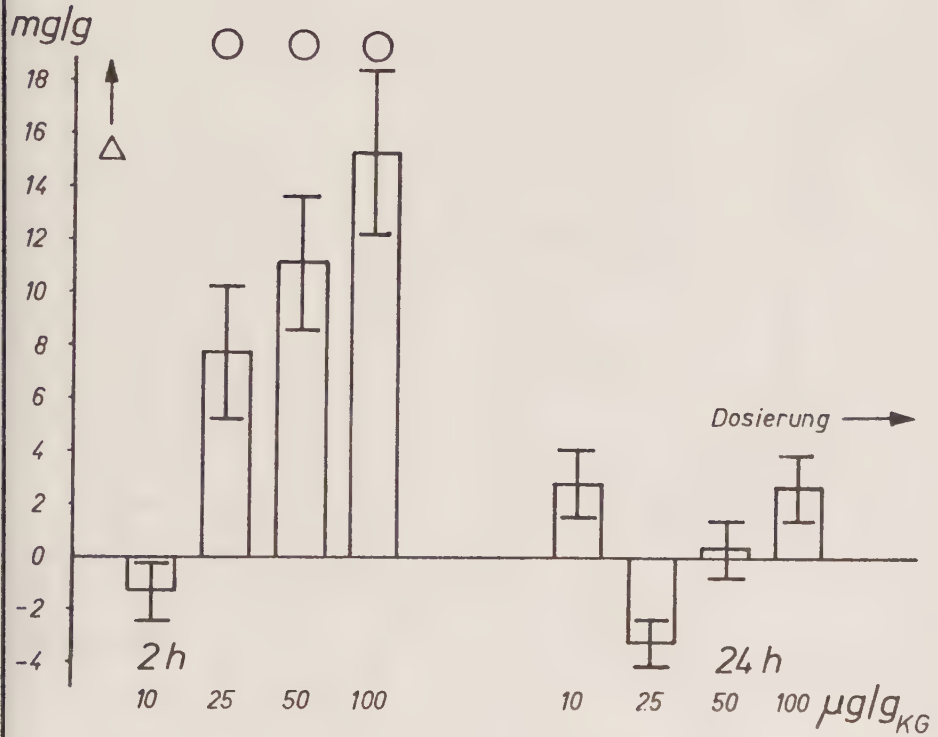


Abb. 1

Veränderungen im Triglyceridgehalt der Leber 2 und 24 Std.
nach Verabreichung von Tetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
P ≤ 0,05

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 15,6 [\text{mg/g}]$

24 h : $\bar{x} = 11,8 [\text{mg/g}]$

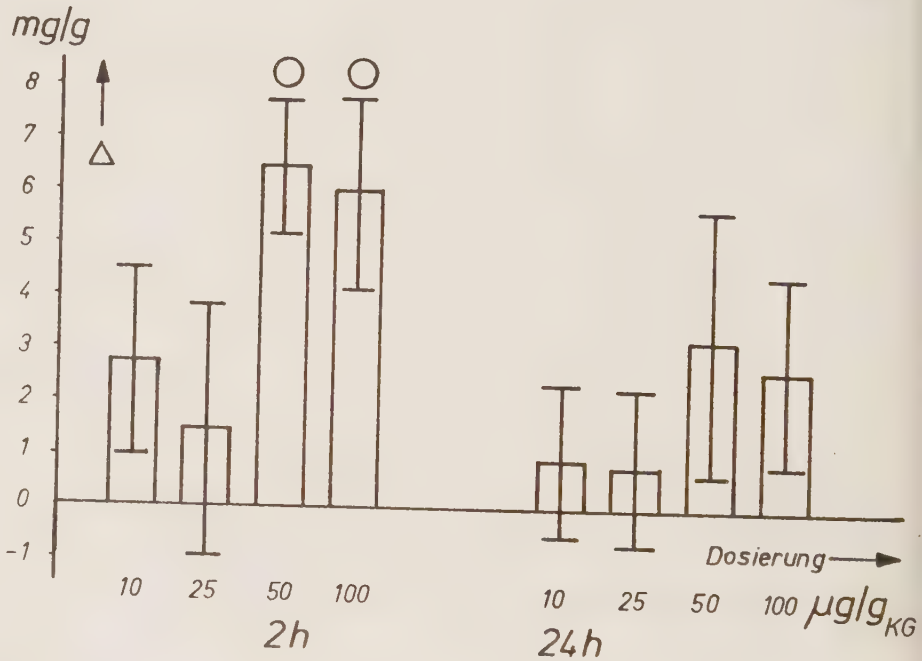


Abb. 2

Veränderungen im Triglyceridgehalt der Leber 2 und 24 Std.
nach Verabreichung von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 15,6 [\text{mg/g}]$
24 h: $\bar{x} = 11,8 [\text{mg/g}]$

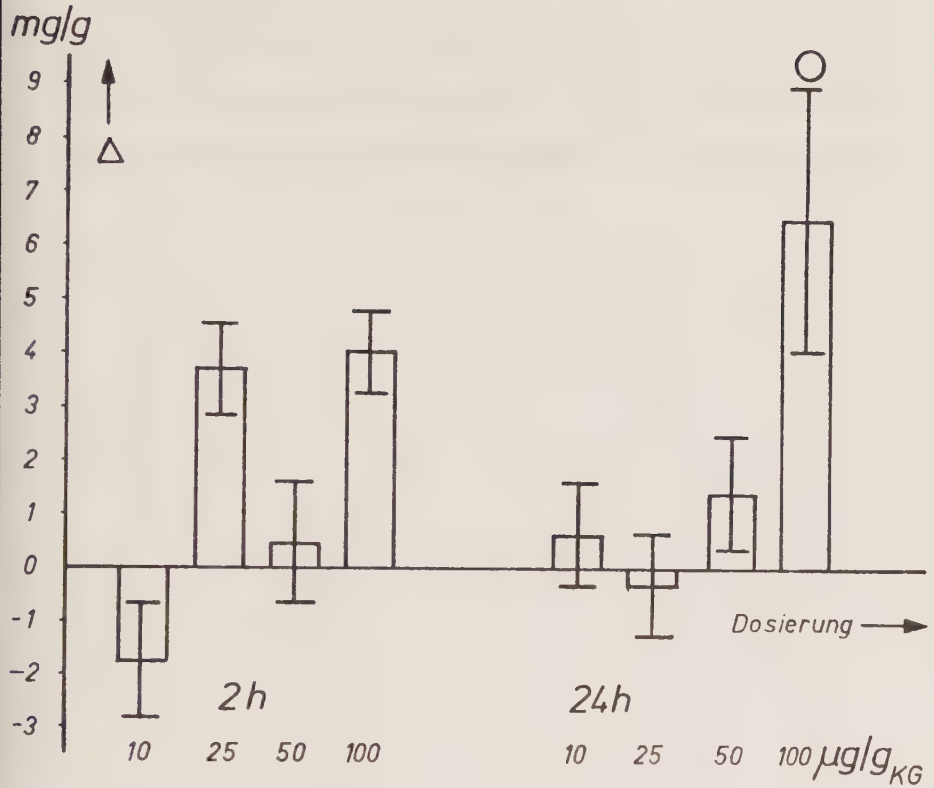


Abb. 3

Veränderungen im Triglyceridgehalt der Leber 2 und 24 Std.
nach Verabreichung von Rolitetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 15,6[\text{mg/g}]$
24 h : $\bar{x} = 11,8[\text{mg/g}]$

3.2. Triglyceride im Serum

2 und 24 Stunden nach der letzten Gabe von Tetracyclin, Doxycyclin und Rolitetetracyclin in allen untersuchten Dosierungen konnten keine signifikanten Veränderungen im Triglyceridgehalt des Serums nachgewiesen werden (Abb. 4-6).

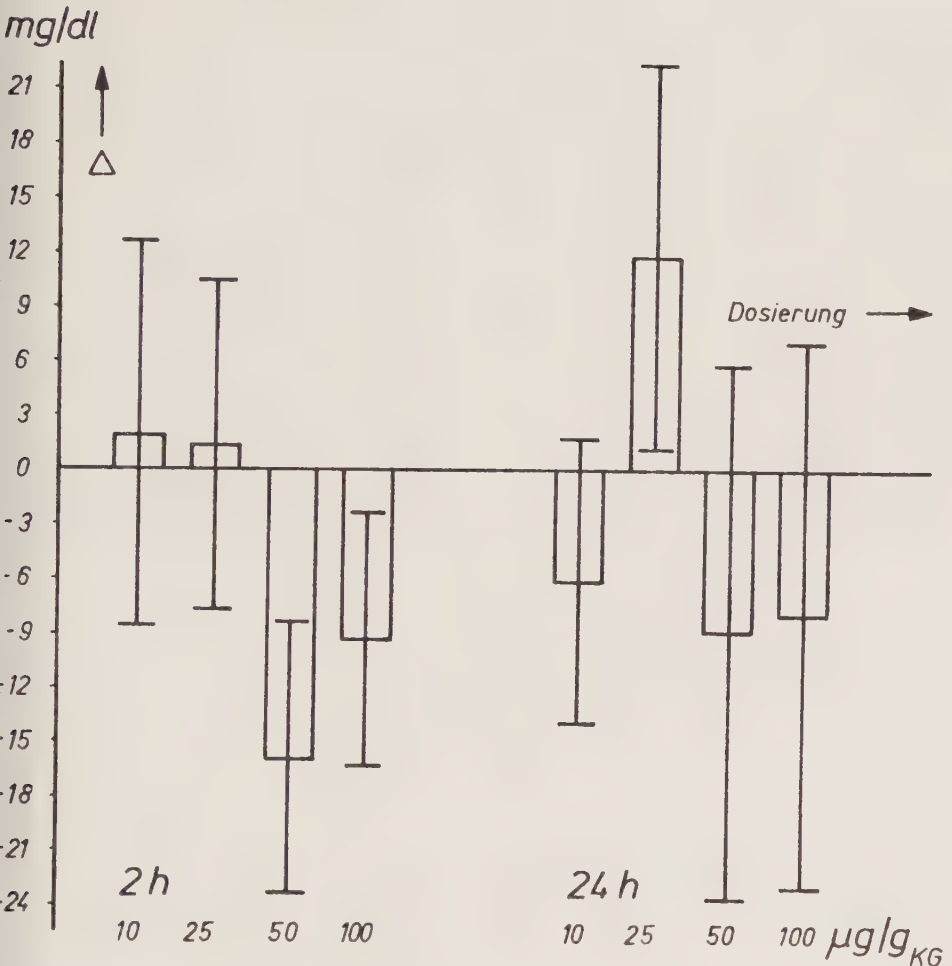


Abb. 4

Veränderungen des Triglyceridgehalts im Serum 2 und 24 Std.
nach Verabreichung von Tetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
P ≤ 0,05

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 107,46$ [mg/dl]

24 h : $\bar{x} = 123,00$ [mg/dl]

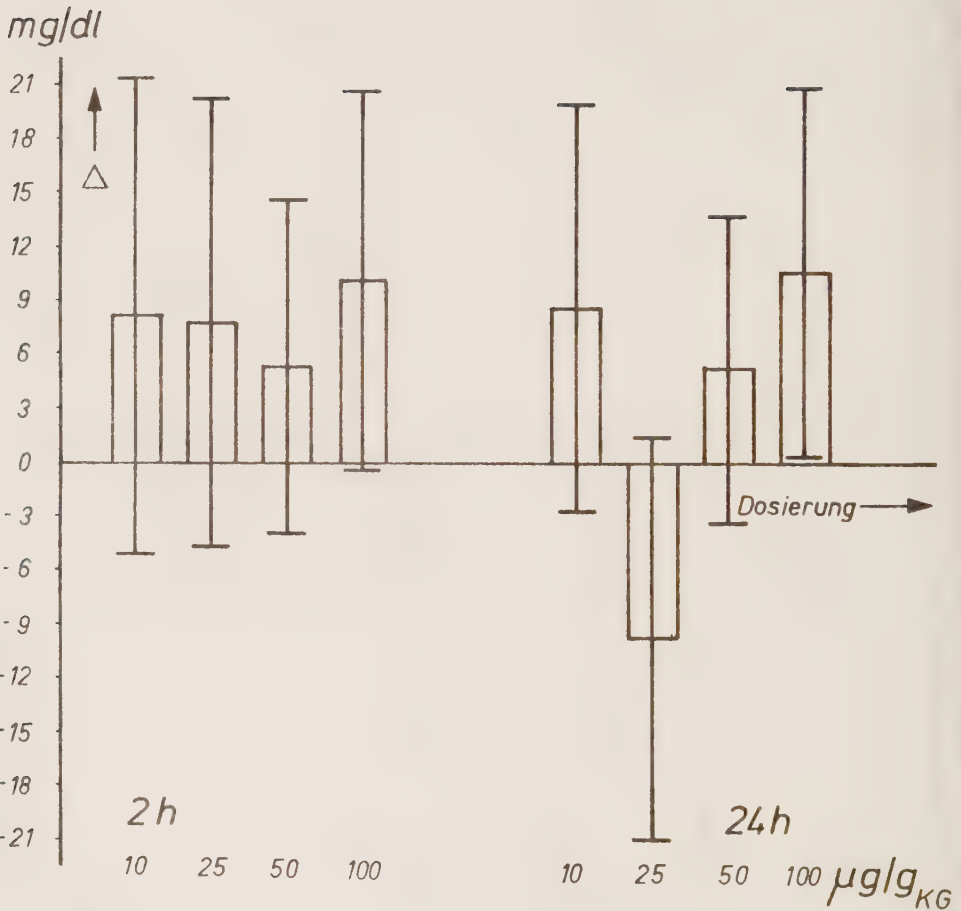


Abb. 5

Veränderungen des Triglyceridgehalts im Serum 2 und 24 Std. nach Verabreichung von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 107,46 [\text{mg/dl}]$
 24 h : $\bar{x} = 123,00 [\text{mg/dl}]$

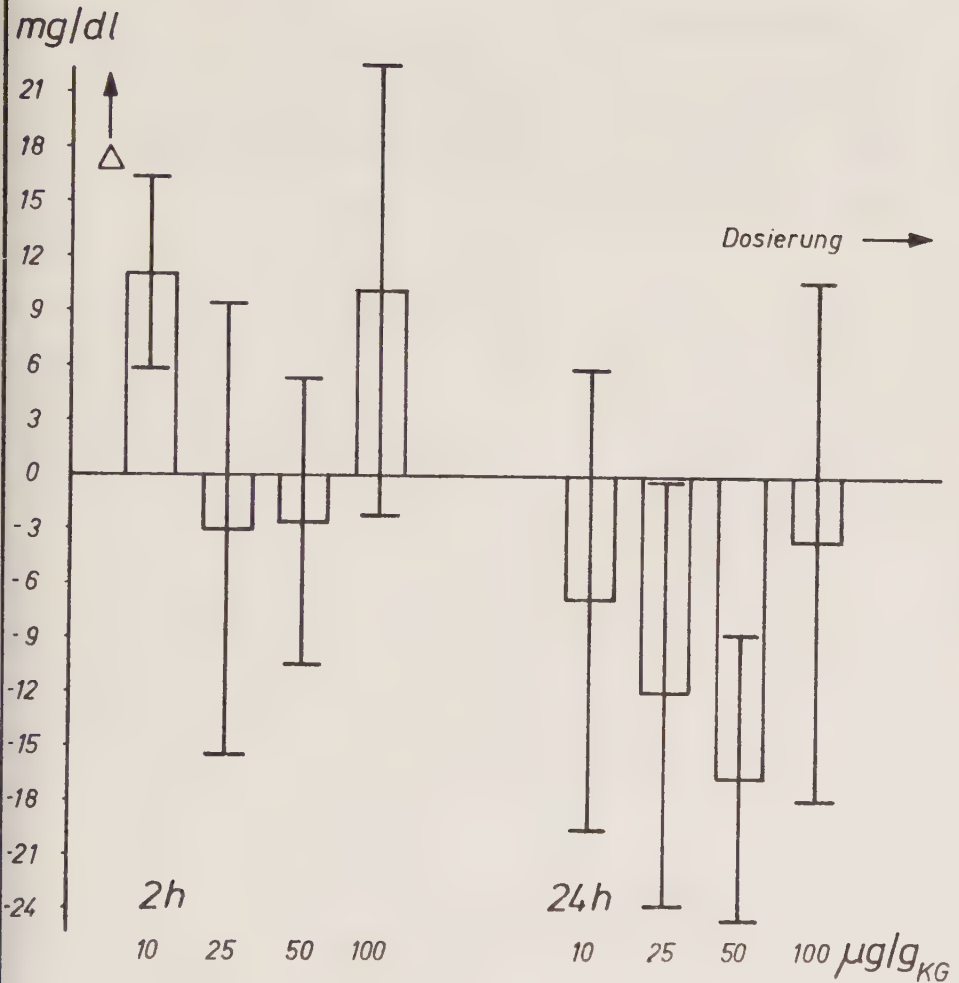


Abb. 6

Veränderungen des Triglyceridgehalts im Serum 2 und 24 Std. nach Verabreichung von Rolitetetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 107,46$ [mg/dl]
 24 h : $\bar{x} = 123,00$ [mg/dl]

3.3. Serumharnstoff

Mit Ausnahme einer einzigen Versuchsreihe (50 µg/g Tetracyclin, 2 Stunden nach der letzten Injektion) konnten keine signifikanten Veränderungen im Serumharnstoffspiegel gefunden werden (Abb. 7-9).

mg/dl

- 27 -

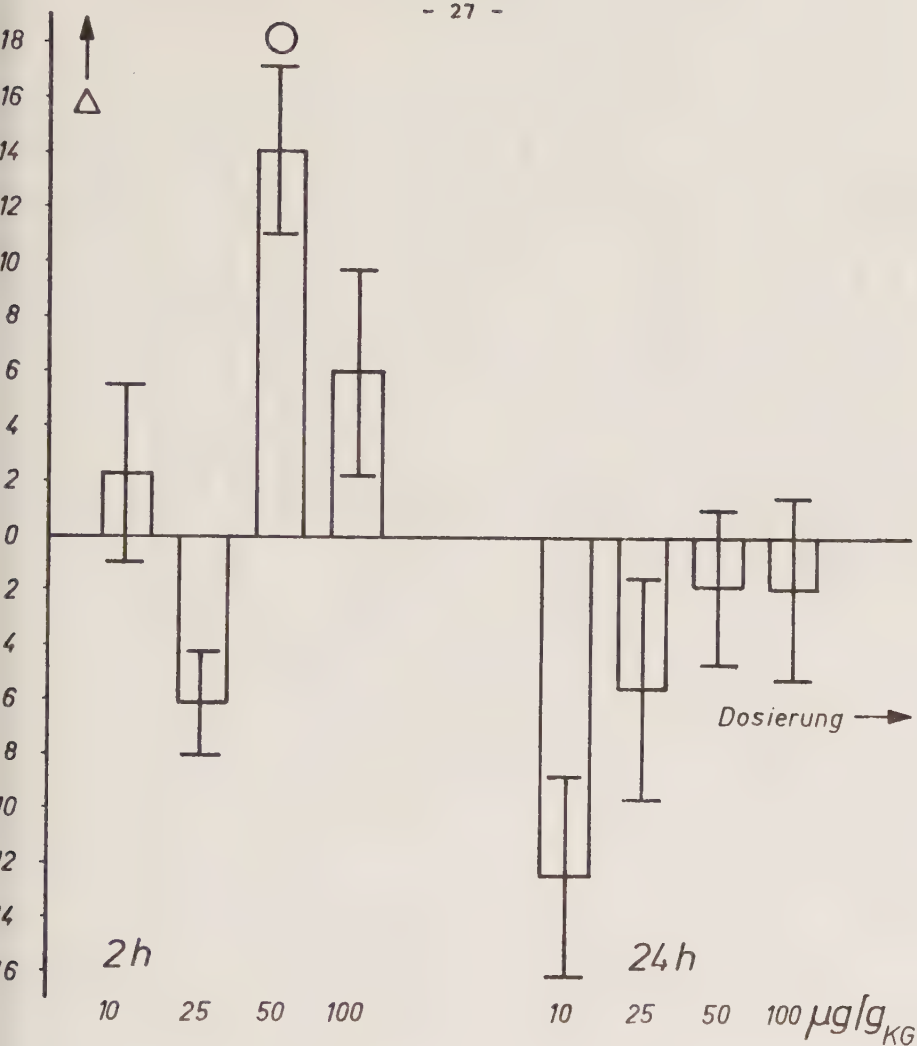


Abb. 7

Veränderungen im Serumharnstoffspiegel 2 und 24 Stunden nach Verabreichung von Tetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

$\bigcirc$ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 56,71 [\text{mg/dl}]$

24 h : $\bar{x} = 64,96 [\text{mg/dl}]$

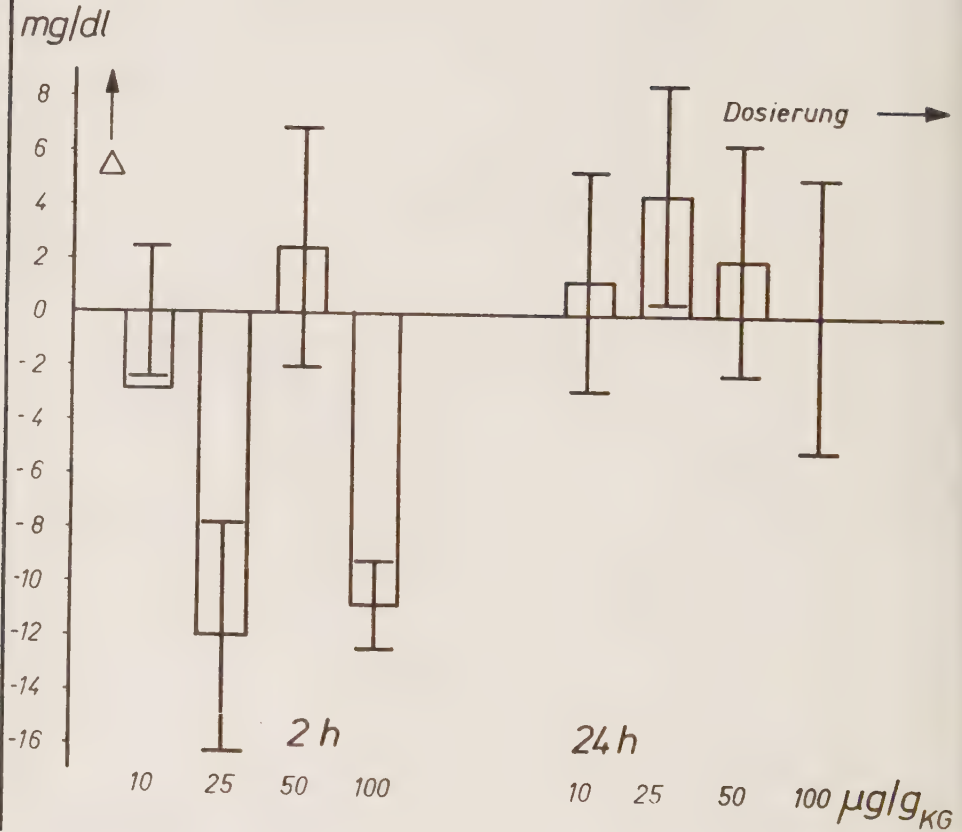


Abb. 8

Veränderungen im Serumharnstoffspiegel 2 und 24 Stunden nach Verabreichung von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 56,71 [\text{mg/dl}]$

24 h : $\bar{x} = 64,96 [\text{mg/dl}]$

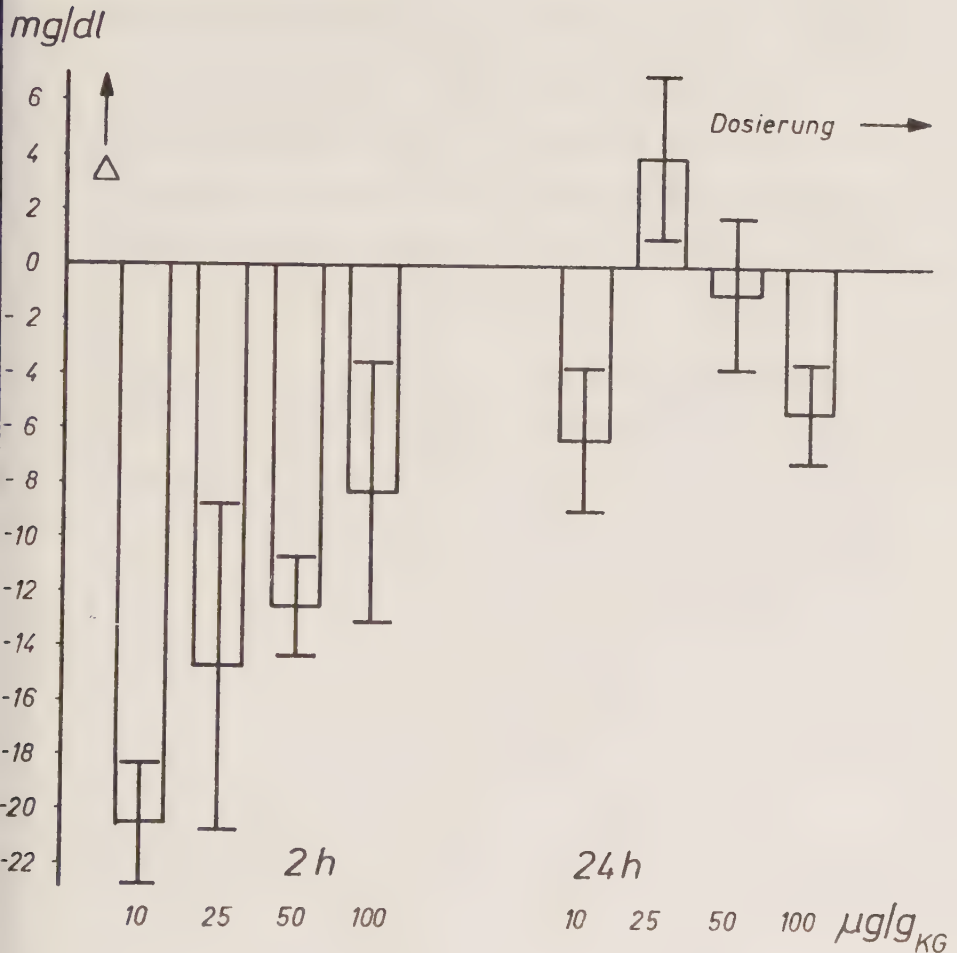


Abb. 9

Veränderungen im Serumharnstoffspiegel 2 und 24 Stunden nach Verabreichung von Rolitetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 56,71$ [mg/dl]
24 h : $\bar{x} = 64,96$ [mg/dl]

3.4. Serum-Bilirubin

Der Serum-Bilirubin-Spiegel war 2 Stunden nach der letzten Injektion von Tetracyclin, Doxycyclin und Rolitetetracyclin in den Dosierungen von 10, 25 und 50 $\mu\text{g/g}$ Körpergewicht nicht signifikant verändert. Bei der Dosierung von 100 $\mu\text{g/g}$ Körpergewicht war der Serum-Bilirubin-Spiegel nur unter Rolitetetracyclin-Applikation signifikant erhöht, für Tetracyclin und Doxycyclin wiederum nicht.

24 Stunden nach der letzten Injektion fanden sich signifikant erhöhte Serum-Bilirubin-Spiegel in den Versuchsgruppen 25, 50 und 100 $\mu\text{g/g}$ KG Tetracyclin, 25, 50 und 100 $\mu\text{g/g}$ KG Rolitetetracyclin und 100 $\mu\text{g/g}$ KG Doxycyclin (Abb. 10-12).

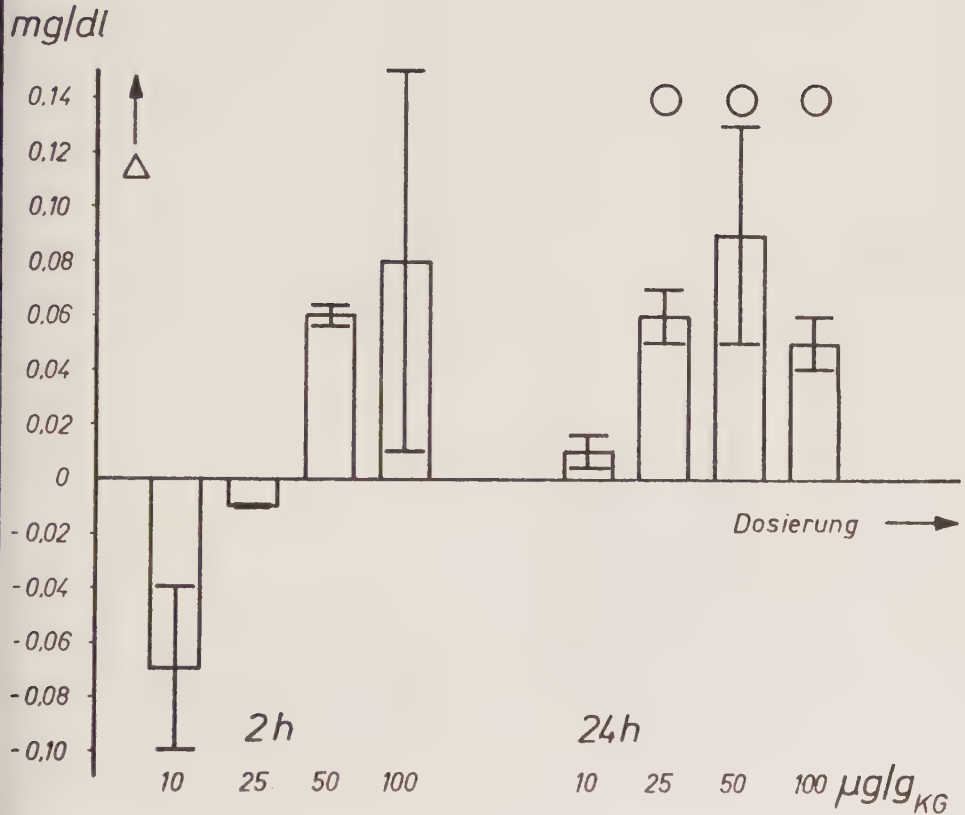


Abb. 10

Veränderungen im Bilirubingehalt des Serums 2 und 24 Std. nach Verabreichung von Tetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden; $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 0,13 [\text{mg/dl}]$
24 h : $\bar{x} = 0,13 [\text{mg/dl}]$

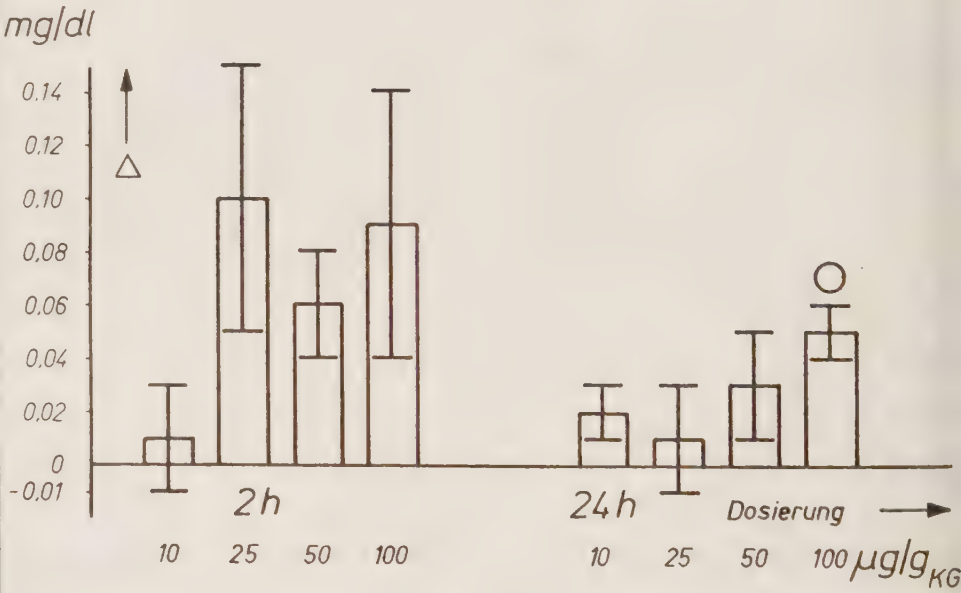


Abb. 11

Veränderungen im Bilirubingehalt des Serums 2 und 24 Std.
nach Verabreichung von Doxycyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $P \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 0,13 [\text{mg/dl}]$

24 h : $\bar{x} = 0,13 [\text{mg/dl}]$

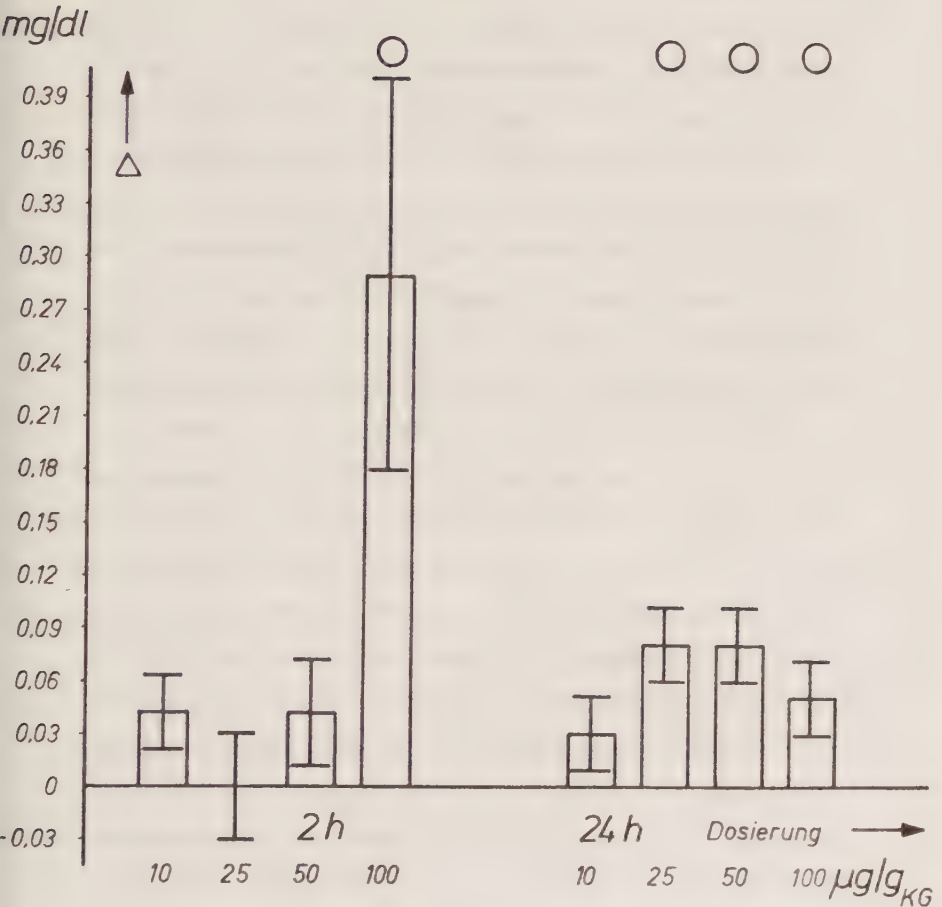


Abb. 12

Veränderungen im Bilirubingehalt des Serums 2 und 24 Std.
nach Verabreichung von Rolitetracyclin ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

○ Wert vom zugehörigen Kontrollwert signifikant verschieden;
 $p \leq 0,05$

Kontrollwerte: 2 h : $\bar{x} = 0,13 [\text{mg/dl}]$
24 h : $\bar{x} = 0,13 [\text{mg/dl}]$

4. DISKUSSION

Bei der Bestimmung der Triglycerid-Konzentration im Lebergewebe konnten unter Verabreichung von Tetracyclin signifikante Erhöhungen gegenüber den Konzentrationen bei den Kontrolltieren festgestellt werden, wenn die Dosierung 25 µg/g Körpergewicht überschritt. Der Effekt war dosisabhängig. Diese Leberverfettungen waren jedoch nach 24 Std. bereits wieder vollständig zurückgegangen. Bei Doxycyclin-gabe zeigte sich für die beiden oberen Dosierungen (50 und 100 µg/g KG) ebenfalls eine signifikante Erhöhung der Lebertriglyceridkonzentration, wobei auch diese nach 24 Std. voll reversibel war. Rolitetra-cyclin bewirkte dagegen nach 2 Std. keine signifikante Erhöhung der Triglyceridkonzentration in der Leber. Die unter 100 µg/g Rolitetra-cyclin nach 24 Std. beobachtete signifikante Zunahme der Lebertriglyceride fällt aus dem Rahmen der üblichen Befunde und sollte deshalb nicht überbewertet werden. Diese Ergebnisse widerlegen die weitverbreitete Annahme, Doxycyclin besitze so gut wie keine Hepatotoxizität. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß zum einen die kleinste eine Zunahme der Lebertriglyceride bewirkende Dosis größer war als bei Tetracyclin und daß zum anderen Doxycyclin in der klinischen Anwendung beim Menschen sehr viel niedriger dosiert wird als Tetracyclin.

Für die Entstehung einer durch Tetracycline induzierten Leberverfettung wurden in mehreren Arbeiten verschiedene

Mechanismen diskutiert. Durch Tetracycline scheinen einmal viele Enzyme, darunter auch die des Fettsäuremetabolismus inhibiert zu werden (6, 38, 40, 41, 64), wobei dieser Effekt durch einen Überschuß an Metallionen verhindert oder aufgehoben werden kann, was zu der Annahme führte, der Tetracyclineffekt auf den Fettsäuremetabolismus beruhe auf einer Komplexbildung der Tetracycline vor allem mit Magnesium-Ionen (6). Von Madoka (39) wird speziell auf die Suppression der Fettsäureoxidase durch Chlortetracyclin hingewiesen, was einen Rückgang der β -Oxidation der Fettsäuren und hiermit eine Triglycerid-Akkumulation in der Leber bewirken könnte. Als Grund für die Abnahme der Fettsäure-Oxidase-Aktivität wird der antianabole Effekt des Chlortetracyclin auf die Synthese von Proteinen erwogen (39). Weiter wird diskutiert, daß die Leberverfettung bei Applikation von Tetracyclinen durch Hemmung der Triglyceridsekretion aus der Leber in das Blut induziert wird, wobei hier eine verminderte Sekretion von very-low-density-Lipoproteinen (VLDL) im Vordergrund steht (29). Als zugrundeliegende Ursache wird eine verminderte Synthese des VLDL-Apoproteins im Zusammenhang mit dem allgemeinen proteinantianabolen Effekt der Tetracycline wahrscheinlich gemacht (5, 31, 61). In ähnlicher Weise soll nach anderen Autoren auch die durch Tetracycline behinderte Synthese eines Lipid-Acceptorproteins für die Leberverfettung verantwortlich sein (31). Aus fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen geht hervor, daß in der Leber unter allen Organen die höchste Konzentration an Tetracyclinen zu finden ist, vor allem in

den zentralen Anteilen der Leberlobuli. Dies wurde gezeigt für Tetracyclin, Methacyclin, Doxycyclin, Demethyldesoxy-tetracyclin, Demethylchlortetracyclin (50), für Chlortetracyclin (3) und für Tetracyclin (4). Das könnte der Grund dafür sein, daß Schäden, u.a. die Verfettung, gerade in der Leber gesetzt werden. Jedoch soll bei adrenalectomierten Ratten unter Wirkung von Tetracyclin keine Erhöhung der Triglycerid-Synthese in der Leber und keine Verminderung der Triglycerid-Sekretion aus der Leber in das Blut vorkommen, wohl aber vor der Adrenalectomie. Dieser Befund weist auf eine Mitbeteiligung von Nebennierenhormonen an der hepatotoxischen Wirkung der Tetracycline hin, wobei allerdings nicht genauer untersucht wurde, um welche Nebennierenhormone es sich hierbei handeln könnte (44).

In den eigenen Versuchen war die Triglycerid-Konzentration im Serum nie signifikant verändert, d.h. es konnte keine reziproke Senkung der Triglyceride im Serum eruiert werden, was im Widerspruch zu der Annahme von Gray und Mitarbeitern (29) steht, eine Erhöhung der Triglycerid-Konzentration in der Leber komme vor allem durch eine verminderte Triglyceridsekretion in das Blut zustande.

Unter den gewählten Versuchsbedingungen führte keines der untersuchten Tetracyclin-Derivate zu einer signifikanten Erhöhung der Harnstoff-Konzentration im Serum. Somit geben

die Versuche keinen Hinweis auf eine ausgeprägte antianabole Stoffwechsellaage. Sie stehen damit im Gegensatz zu einer Reihe von Untersuchungen (11, 16, 17, 18, 27, 33, 36, 43, 46, 55, 56), wozu allerdings zu sagen ist, daß die Ergebnisse teilweise nur schwer oder nicht vergleichbar sind.

So zeigen sich Unterschiede zu dieser Studie in der Wahl des jeweiligen Tetracyclin-Derivats, der Dosierung, der Behandlungsdauer, der Applikationsart, der behandelten Species u. dgl. Einige Beispiele sollen dies erläutern:

- In einer Untersuchung von Faloon und Mitarbeitern (18) wurde ein Anstieg der Harnstoff-Konzentration im Serum nach Gabe von Oxytetracyclin beobachtet, welches über längere Zeit verabreicht wurde.
- Sedwitz und Mitarbeiter (53) verabreichten Oxytetracyclin intravenös an Hunde bis zu der sehr hohen, z.T. bereits letalen Dosis von 220 µg/g Körpergewicht bei einer Behandlungsdauer von 7 Tagen. Unter dieser massiven Oxytetracyclin-Belastung konnten dann Erhöhungen des Harnstoffspiegels im Serum gefunden werden.
- In zwei Arbeiten von Bateman und Mitarbeitern (1, 2) und in einer Arbeit von Edwards und Mitarbeitern (12) konnten die Erhöhungen der Harnstoff-Konzentration im Serum bei Patienten mit vorgeschädigter Niere unter der Behandlung mit Oxytetracyclin und Chlortetracyclin beschrieben werden.

Die Ergebnisse der eigenen Studie decken sich andererseits wieder mit den Ergebnissen anderer Autoren (19, 51, 60), die ebenfalls keinen Anstieg des Serumharnstoffs unter Behandlung mit Tetracyclin-Derivaten fanden.

- So führt in einer Untersuchung von Farhat und Mitarbeitern (19) eine Verabreichung von Oxytetracyclin, Chlortetracyclin oder Tetracyclin intraperitoneal an Kaninchen bis zu der sehr hohen Dosis von 300 µg/g Körpergewicht zu keinem signifikanten Anstieg des Serumharnstoffspiegels.
- Vith und Roggenbach (60) verabreichten bei Menschen Tetracyclin intravenös in der therapeutischen Dosierung von 1 g/Tag 3 Tage lang und 0,5 g/Tag an den folgenden Tagen bei einer Behandlungsdauer von 8 Tagen. Es blieben bei dieser Dosierung die Konzentrationen des Harnstoffs im Serum normal.
- Scheuble und Kluthe (51) konnten ebenfalls keine anti-anabole Wirkung unter Verabreichung therapeutischer Dosen an Menschen von Doxycyclin (1. Tag: 200 mg i.v., dann 100 mg/Tag; Behandlungsdauer: 5 Tage) und Rolitetra-cyclin (275 mg/Tag i.v.; Behandlungsdauer: 5 Tage) feststellen, wobei allerdings bei dieser Untersuchung keine Harnstoffspiegel bestimmt wurden, sondern aufgrund von Stickstoff-Bilanz-Untersuchungen Rückschlüsse auf die Proteinstoffwechsellaage gezogen wurden.

Die Ergebnisse der Bestimmung der Harnstoff-Konzentration im Serum innerhalb unserer Studie stehen auch im Ein-

klang mit den Ergebnissen der Bestimmung der Triglycerid-Konzentration in Blut und Leber, die keinen Hinweis auf eine Störung der Lipoproteinsekretion erkennen ließen. Es scheint, daß der antianabole Effekt offenbar unter extremen Bedingungen auftritt bzw. zu klinischen Folgeerscheinungen führt.

Die Untersuchung der Konzentration des Gesamt-Bilirubins im Serum ließ 2 Std. nach der letzten Applikation nur für Rolitetetracyclin und nur bei einer Dosis von 100 µg/g Körpergewicht eine signifikante Erhöhung der Bilirubin-Konzentration im Serum gegenüber den Kontrolltieren erkennen. Überraschenderweise sind jedoch 24 Std. nach der letzten Verabreichung von Rolitetetracyclin - nur mit Ausnahme der niedrigsten Dosis von 10 µg/g - die Serumbilirubinspiegel bei den Versuchstieren signifikant erhöht. Dasselbe Ergebnis zeigt sich bei Tetracyclin, unter Doxycyclingabe ist eine signifikante Erhöhung allerdings nur bei der höchsten Dosierung von 100 µg/g zu erkennen. Diese Erhöhungen der Bilirubin-Konzentration im Serum sprechen für eine Funktionsstörung der Leber durch die untersuchten Tetracycline. Nicht zu entscheiden ist, über welchen Mechanismus diese Störung letzten Endes zustande kommt, z.B. ob es sich um eine verminderte Aufnahme von Bilirubin in die Leberzellen, eine Verminderung der Glucuronidierung oder eine Störung der Bilirubin -Exkretion handelt. Dies zu erklären, war nicht Thema dieser Studie und muß späteren Untersuchungen vorbe-

halten bleiben. Ungeklärt bleibt auch, warum der Anstieg der Bilirubin-Konzentration im Serum - außer bei Rolitetra-
cyclin in der hohen Dosierung von 100 µg/g - erst 24 Std.
nach der letzten Arzneimittelinjektion auftritt, zumal ja
die 3 Tetracycline 5 Tage lang appliziert wurden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei der Unter-
suchung der Triglycerid-Konzentration in der Leber unter den
3 untersuchten Tetracyclinen die höchste Hepatotoxizität
im Sinne einer Fettstoffwechselstörung mit Neigung zu einer
schnell reversiblen Fetteinlagerung in die Leber dem Tetra-
cyclin, eine geringere, doch keineswegs zu übersehende dem
Doxycyclin zugesprochen werden muß. Bei Rolitetracyclin
treten entsprechende Störungen nicht auf oder führen zu-
mindest nicht zu einer meßbaren Zunahme der Lebertriglycerid-
Konzentration. Die Ergebnisse der Bilirubin-Bestimmungen
machen vor allem für Rolitetracyclin und Tetracyclin eine
hepatotoxische Wirkung, die zu einer entsprechenden Funktions-
störung führt, wahrscheinlich. In geringem Maße, d.h. nur bei
höherer Dosierung gilt dies auch für das Doxycyclin. Eine
ähnliche Rangfolge wie für die Störung des Bilirubinstoff-
wechsels fand Fischer (22) in analogen Versuchen für das
Auftreten von erhöhten Transaminasen-Aktivitäten im Serum
und für eine Störung der Bromsulfaleinausscheidung. Ähnlich
wie bei den Untersuchungen von Fischer (22), die sich auf
die Aktivität der SGOT und SGPT und die Bromsulfaleinretention
bezogen, liegt die kritische Grenzdosis für Tetracyclin und

Rolitetracyclin, ab der Störungen im Bilirubinstoffwechsel auftreten, bei 25 µg/g Körpergewicht. Bezüglich den Störungen im Fettstoffwechsel der Leber mit Neigung zu Leberverfettung gilt für Tetracyclin die gleiche Grenz-dosis. Für Doxycyclin liegt hier die kritische Grenz-dosis erst bei 50 µg/g Körpergewicht.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Da es sich bei den bis jetzt vorliegenden klinischen und tierexperimentellen Studien zum Thema der Hepatotoxizität von Tetracyclinen zum größten Teil um isolierte Befunde handelt, die schwer miteinander zu vergleichen sind, sollten in der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchung an Mäusen drei therapeutisch wichtige Tetracycline, nämlich das schon lange klinisch verwendete Tetracyclin, das relativ neue Doxycyclin und das toxikologisch noch sehr wenig untersuchte Rolitetracyclin unter völlig gleichen Versuchsbedingungen, vergleichend auf eine mögliche Hepatotoxizität hin, analysiert werden. Durch Verwendung mehrerer vom therapeutischen bis zum toxischen Bereich reichender Dosierungen, die jeweils 1 x täglich über einen Zeitraum von 5 Tagen subcutan injiziert wurden, sollte dabei versucht werden, evtl. vorhandene Dosis-Wirkungs-Beziehungen ersichtlich zu machen und kritische Dosierungsgrenzen bezüglich der Hepatotoxizität der drei Tetracycline im Tier-versuch festzustellen. Zur Abschätzung der durch Tetracycline

bedingten Leberfunktionsstörungen wurden die folgenden biochemischen Parameter herangezogen: Die Konzentration der Triglyceride im Lebergewebe und im Serum sowie die Serumkonzentration von Harnstoff und Bilirubin.

Aufgrund der Triglyceridbestimmungen im Lebergewebe und der daraus erkennbaren Neigung zur Triglyceridakkumulation besaß Tetracyclin die höchste Hepatotoxizität mit einer kritischen Dosierungsgrenze von 25 µg/g Körpergewicht. Eine geringere, doch nicht zu übersehende, dosisabhängige Toxizität zeigte das Doxycyclin mit einer kritischen Dosierungsgrenze von 50 µg/g. Die durch Tetracyclin und Doxycyclin verursachten Leberverfettungen waren schnell und vollständig reversibel. Für das Rolitetetracyclin konnte keine Fettleber-Induktion nachgewiesen werden.

Da die Konzentration der Triglyceride im Serum bei keinem der drei untersuchten Tetracycline signifikant von den Kontrollwerten abwich, ergaben die Versuche keinen Hinweis darauf, daß die Leberschädigung als Folge einer verminderten Lipoproteinsekretion durch die Leber, etwa aufgrund eines antianabolen Effektes der Tetracycline auf den Proteinstoffwechsel der Leber gedeutet werden müßte.

Die Befunde, daß keine erhöhten Harnstoff-Konzentrationen im Serum gefunden werden konnten, stehen damit insofern im

Einklang, als auch sie keinen Hinweis auf eine antianabole Proteinstoffwechsellaage ergeben.

Tetracyclin und Rolitetetracyclin führten weiterhin zu Störungen im Bilirubinstoffwechsel, die 24 Std. nach der letzten Applikation der Pharmaka in einer Zunahme der Bilirubin-Konzentration im Serum erkennbar wurde. Die kritische Dosis, ab der dieser Effekt auftrat, betrug 25 µg/g. Bei Doxycyclin war ein ähnlicher Effekt nur mit einer Dosis von 100 µg/g zu erreichen.

Insgesamt gesehen können also alle drei untersuchten Tetracycline in höherer Dosierung die Leberfunktion ungünstig beeinflussen, wobei Rolitetetracyclin vor allem den Bilirubinstoffwechsel, Doxycyclin den Fettstoffwechsel und Tetracyclin beide Funktionen beeinträchtigt.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Bateman, J.C., Barberio, J.R., Brice, P., Klopp, C.J.,
Pierpont, H. (1952).
Fatal Complications of Intensive Antibiotic Therapy
in Patients with Neoplastic Disease.
Arch.Int.Med. 90: 763-773
- (2) Bateman, J.C., Klopp, C.T., Samson, R. (1954).
Effect of Nephrectomy on Azotemia Associated with
Parenteral Antibiotic Administration.
Antibiot.Ann. 1953-54: 531-534
- (3) Böttiger, L.E. (1955).
On the Distribution of Chlortetracycline in the Body.
Acta Med.Scand. 151: 343-348
- (4) Böttiger, L.E. (1955).
On the Distribution of Tetracycline in the Body.
Antibiot.Chemotherap. 5: 332-339
- (5) Breen, K., Schenker, S., Heimberg, M. (1972).
The Effect of Tetracycline on the Hepatic Secretion
of Triglyceride.
Biochem.Biophys. Acta 270: 74-80
- (6) Brody, T.M., Hurwitz, R., Bain, J.A. (1954).
Magnesium and the Effect of the Tetracycline Antibiotic
on Oxidative Processes in Mitochondria.
Antibiot.Chemotherap. 4: 864-870
- (7) Combes, B., Whalley, P.J., Adams, R.H. (1972).
Tetracycline and the Liver.
in: Popper, H. und Schaffner, F.:
Progress in Liver Disease.
Grune & Stratton, New York-London Vol. IV, Kap.34:
589-596

- (8) Connamacher, R.H., Mandel, H.G. (1965).
Binding of Tetracycline to the 30S Ribosomes and
to Polyuridylic Acid.
Biochem.Biophys.Comm. 20: 98-103
- (9) Craven, G.R., Gavin, R., Fanning, T. (1969).
The Transfer RNA Binding Site of the 30S Ribosome
and the Site of Tetracycline Inhibition.
Sympos.Quant.Biol. 34: 129-137
- (10) Davis, J.S., Kaufman, R.H. (1965).
Tetracycline Toxicity.
Amer.J.Obstetr. 95: 523-529
- (11) Eastwood, J.B., Bailey, R.R., Curtis, J.R., Gower, P.E.,
De Wardener, H.E. (1970).
Tetracycline in Renal Failure.
Lancet 2: 39
- (12) Edwards, O.M., Huskisson, E.C., Taylor, R.T. (1970).
Azotaemia Aggravated by Tetracycline.
Brit.Med.J. 1: 26-27
- (13) Eggstein, M. (1966).
Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und
Gewebe. II.Mitteilung: Zuverlässigkeit der Methode,
andere Neutralfettbestimmungen, Normalwerte für Triglyceride
und Glycerin im menschlichen Blut.
Klin.Wschr. 44: 267-273
- (14) Eggstein, M., Kreutz, F.H. (1966).
Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum
und Gewebe. I.Mitteilung: Prinzip, Durchführung und
Besprechung der Methode.
Klin.Wschr. 44: 262-267

- (15) Einheber, A., Rosen, H., Wren, R.E., Beaudry, N.N. (1966).
The Role of Microbial Flora in the Hepatotoxicity
of Chlortetracycline in vivo: A Study with Germfree
Mice.
Biochem.Pharmacol. 15: 1093-1104
- (16) Faloon, W.W., Downs, J.J., Duggan, K., Prior, J.T. (1957).
Nitrogen and Elektrolyte Metabolism and Hepatic Function
and Histology in Patients Receiving Tetracycline.
Amer.J.Med. Sci. 233: 563-572
- (17) Faloon, W.W., Noll, J.W., Collins, K. (1954).
Metabolic and Histologic Studies in Patients with and
without Liver Disease Receiving Chloramphenicol and
Oxytetracycline.
J.Lab.Clin.Med. 44: 75-90
- (18) Faloon, W.W., Noll, J.W., Prior, J.T. (1953).
Nitrogen Metabolism and Liver Histology during
Aureomycin Administration in Patients with Hepatic
Disease.
J.Lab.Clin.Med. 41: 596-607
- (19) Farhat, S.M., Schelhart, D.L., Musselman, M.M. (1958).
Clinical Toxicity of Antibiotics Correlated with
Animal Studies.
Arch.Surg. 76: 762-765
- (20) Fawcett, J.K., Scott, J.E. (1960).
A Rapid and Precise Method for the Determination of
Urea.
J.Clin.Path. 13: 156-159
- (21) Feingold, D.S. (1963).
Antimicrobial Chemotherapeutic Agents: The Nature
of their Action and Selective Toxicity.
New Engl.J.Med. 269:957-964

- (22) Fischer, H. (1978).

Vergleichende tierexperimentelle Untersuchungen zur subakuten Hepatotoxizität von Tetracyclinen, Brom-sulfaleinretention sowie Transaminasen- und Sorbit-dehydrogenase-Aktivität im Serum nach Verabreichung von Tetracyclin, Rolitetetracyclin und Doxycyclin.
Inaug.Diss. Erlangen

- (23) Forth, W., Henschler, D., Rummel, W. (Hrsg.) (1977).

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.
Bibliograph. Inst. Mannheim/Wien/Zürich, B.I.-
Wissenschaftsverlag, 2. Auflage: 500-505

- (24) Franklin, T.J. (1964).

The Effect of Chlortetracycline on the Transfer of Leucine and "Transfer" Ribonucleic Acid to Rat-Liver Ribosomes in vitro.
Biochem.J. 90: 624-628

- (25) Franklin, T.J. (1963).

The Inhibition of Incorporation of Leucine into Protein of Cell-Free Systems from Rat Liver and Escherichia coli by Chlortetracycline.
Biochem.J. 87: 449-453

- (26) Gale, E.F., Folkes, J.P. (1953).

The Assimilation of Amino-acids by Bacteria. Actions of Antibiotics on Nucleic Acid and Protein Synthesis in Staphylococcus aureus.
Biochem.J. 53: 493-498

- (27) George, C.R.P., Evans, R.A. (1971).

Tetracycline Toxicity in Renal Failure.
Med.J.Aust. 1: 1271-1273

- (28) Gottesman, M.E. (1967).
Reaction of Ribosome-bound Peptidyl Transfer Ribonucleic
Acid with Aminoacyl Transfer Ribonucleic Acid or
Puromycin.
J.Biol.Chem. 242: 5564-5571
- (29) Gray, J.E., Weaver, R.N., Skinner, P., Mathews, J.,
Day, Ch.E., Stern, K. (1974).
Effects of Tetracycline on Ultrastructure and
Lipoprotein Secretion in the Rat Hepatocyte.
Toxicol.appl.Pharmacol. 30: 317-332
- (30) Greenberger, N.J. (1967).
Inhibition of Protein Synthesis in Rat Intestinal
Slices by Tetracycline.
Nature 214: 702-703
- (31) Hansen, C.H., Pearson, L.H., Schenker, S., Combes, B. (1968)
Impaired Secretion of Triglycerides by the Liver;
A Cause of Tetracycline-Induced Fatty Liver.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 128: 143-146
- (32) Jendrassik, L., Gróf, P. (1938).
Vereinfachte photometrische Methoden zur Bestimmung
des Blutbilirubins.
Biochem.Z. 297: 81-89
- (33) Korkeila, J. (1971).
Antianabolic Effect of Tetracyclines.
Lancet 1: 974-975
- (34) Lepper, M.H., Wolfe, C.K., Zimmerman, H.J., Caldwell, E.R.,
Spies, H.W., Dowling, H.F. (1951).
Effect of Large Doses of Aureomycin on Human Liver.
Arch.Int.Med. 88: 271-283

- (35) Lepper, M.H. Zimmerman, H.J., Carroll, G., Caldwell, E.R.,
Spies, H.W., Wolfe, C.K., Dowling, H.F. (1951).
Effect of Large Doses of Aureomycin, Terramycin and
Chloramphenicol on Livers of Mice and Dogs.
Arch.Int.Med. 88: 284-295
- (36) Lew, H.T., French, S.W. (1966).
Tetracycline Nephrotoxicity and Nonoliguric
Acute Renal Failure.
Arch.Int.Med. 118: 123-128
- (37) Little, P.J., Bailey, R.R. (1970).
Tetracyclines and Renal Failure.
New Zeal.Med.J. 72: 183-184
- (38) Loomis, W.F. (1950).
On the Mechanism of Action of Aureomycin.
Science 111: 474
- (39) Madoka, Ito (1962).
Mechanisms of the Fatty Liver Produced by the
Administration of Antibiotics.
Nagoya J.Med.Sci. 25: 37-59
- (40) van Meter, J.C., Oleson, J.J. (1951).
Effect of Aureomycin on the Respiration of Normal Rat
Liver Homogenates.
Science 113: 273
- (41) van Meter, J.C., Spector, A., Oleson, J.J.,
Williams, J.H. (1952).
In vitro Action of Aureomycin on Oxidative
Phosphorylation in Animal Tissues.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 81: 215-217

- (42) Morgan, T., Ribush, N. (1972).
The Effect of Oxytetracycline and Doxycycline on
Protein Metabolism.
Med.J.Aust. 1: 55-58
- (43) Mukherjee, D., Mukherjee, S. (1969).
Studies on the Effect of Tetracycline on Triglyceride
Synthesis in Experimental Rats.
J. Antibiotics, Ser. A. 22: 45-48
- (44) Perkash, I., Kataria, P.N., Khanna, O.P. (1969).
Possible Tetracycline Toxicity in Azotemia.
J.Urol. 102: 102-107
- (45) Rick, W. (1974).
Klinische Chemie und Mikroskopie.
Springer Verlag Berlin/Heidelberg/New York
3. Aufl. 1974: 173-174
- (46) Roth, H., Becker, K.L., Shalhoub, R.J., Katz, S. (1967).
Nephrotoxicity of Demethylchlortetracycline
Hydrochloride.
Arch.Int.Med. 120: 433-435
- (47) Rutenberg, A.M., Pinkes, S. (1952).
The Hepatotoxicity of Intravenous Aureomycin.
New Engl.J.Med. 247: 797-800
- (48) Sarkar, S., Thach, R.E. (1968).
Inhibition of Formylmethionyl-Transfer RNA
Binding to Ribosomes by Tetracycline.
Proc.Nat.Acad.Sci. 60: 1479-1486
- (49) Sborov, V.M., Sutherland, D.A. (1951).
Fatty Liver Following Aureomycin and Terramycin
Therapy in Chronic Hepatic Disease.
Gastroenterology 18: 598-605

- (50) Schach von Wittenau, M., Delahunt, C.S. (1966).
The Distribution of Tetracyclines in Tissues of
Dogs after Repeated Oral Administration.
J.Pharm.Exp.Ther. 152: 164-169
- (51) Scheuble, W., Kluthe, R. (1975).
Vergleichende Stickstoff-Bilanz-Untersuchungen
zur antianabolen Wirkung von Tetracyclinen.
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 4: 95-100
- (52) Schmidt, F.H., von Dahl, K. (1968).
Zur Methode der enzymatischen Neutralfett-Bestimmung
in biologischem Material.
Z.Klin.Chem.Klin.Biochem. 6: 156-159
- (53) Sedwitz, J., Bateman, J.C., Klopp, C.T. (1953).
Oxytetracycline Toxicity Studies in Dogs.
Antibiotics & Chemother. 3: 1015-1019
- (54) Shauer, B.A., Lukacs, L., Zimmerman, H.J. (1974).
Biochemical Indices of Tetracycline Hepatic Injury
in Rats.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 147: 868-872
- (55) Shils, M.E. (1963).
Renal Disease and the Metabolic Effects of
Tetracycline.
Ann.Int.Med. 58: 389-408
- (56) Shils, M.E. (1962).
Some Metabolic Aspects of Tetracyclines.
Clin.Pharmacol.Ther. 3: 321-339

- (57) Siegenthaler, W., (Hrsg.) (1976).
Klinische Pathophysiologie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart
3. Aufl. 1976: 142
- (58) Suarez, G., Nathans, D. (1965).
Inhibition of Aminoacyl-sRNA Binding to Ribosomes
by Tetracycline.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 18: 743-750
- (59) Suzuka, I., Kaji, H., Kaji, A. (1966).
Binding of Specific SRNA to 30S Ribosomal
Subunits: Effect of 50S Ribosomal Subunits.
Proc.Nat.Acad.Sci. 55: 1483-1490
- (60) Vith, W., Roggenbach, H.-J. (1970).
Klinisch-chemische Untersuchungen über den Einfluß
einer Tetracyclin-Infusionsbehandlung auf Leber-
und Nierenfunktion.
Med.Welt 21: 76-80
- (61) Weinstein, I., Dishmon, G., Heimberg, M. (1966).
Hepatic Lipid Metabolism in Carbon Tetrachloride
Poisoning.
Biochem.Pharmacol. 15: 851-861
- (62) Yeh, S.D.J., Shils, M.E. (1966).
Tetracycline and Incorporation of Amino Acids
into Proteins of Rat Tissues.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 121: 729-734
- (63) Yesner, R., Kunkel, P. (1951).
Preliminary Observations on the Effect of
Aureomycin, Terramycin, Tibione, Combined Tibione
and Streptomycin, and Chloromycetin on the
Morphology of the Liver in Man.
Yale J.Biol.Med. 23: 299-304

- (64) Zimmerman, H.J., Humoller, F.L. (1953).
Effect of Aureomycin on Choline Oxidase and
Other Enzyme Systems of Rat Liver.
Amer.J.Physiol. 175: 468-472

./.



L e b e n s l a u f

Am 17. Januar 1954 wurde ich als zweites von zwei Kindern des Hauptlehrers Isidor Lang und seiner Ehefrau, der Oberlehrerin Juliane Lang, geborene Böhm, in Regensburg geboren. Ich besitze die deutsche Staatsbürgerschaft.

1960 trat ich in die St.-Wolfgang-Schule Regensburg ein und wechselte 1964 in das Albertus-Magnus-Gymnasium Regensburg über, wo ich 1973 das Abitur des Humanistischen Fachzweiges ablegte.

Am 1. Oktober 1973 wurde ich an der Universität Regensburg für das Fach Medizin immatrikuliert, wo ich am 26. August 1975 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Ab dem Wintersemester 1975/76 führte ich das Medizinstudium an der Universität Erlangen-Nürnberg weiter, wo ich am 16. November 1979 die ärztliche Prüfung ablegte. Meine Approbation als Arzt wurde am 26. November 1979 von seiten des Bayerischen Staatsministerium des Innern ausgestellt.

Seit dem 20. Juli 1973 bin ich mit der Lehrerin Aloisia Lang, geborene Sauerer, verheiratet.

Erlangen, den 20. Dezember 1979

Es ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

Die Zeit ist jedoch nicht möglich, die Zeit zu bestimmen.

COPY PRINT

IN LITHOGRAPH

FROM A 1467. IN ST. 21

682. 110. 110. 110.

